

Strahlenbiologische Untersuchungen zur Reoxygenierung
in einem transplantablen Fibrosarkom der Maus

1978

Rainer Fink



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Strahlenbiologischen Institut
der Universität München
Vorstand: Prof. Dr. O.Hug

Strahlenbiologische Untersuchungen zur Reoxygenierung
in einem transplantablen Fibrosarkom der Maus

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der Doktorwürde in der gesamten Medizin
an der Ludwig Maximilians-Universität zu München



vorgelegt von

Rainer Fink

aus

Freising

Jahr

1978

Mit Genehmigung des Fachbereichs Medizin der
Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. O.Hug

Mitberichterstatter: Priv.-Doz. Dr. K.-R. Trott

Dekan: Prof. Dr. W.Spann

Tag der mündlichen Prüfung: 13.6.78



Für die Überlassung des Themas und die kritische
Durchsicht der Arbeit danke ich Herrn Professor
Dr. Hug sehr herzlich.

Hinsichtlich der Durchführung, Analyse und Interpre-
tation der Versuche verdanke ich Herrn Priv.-Doz. Dr.
Trott und Herrn Dr. Kummermehr wertvolle Hilfe. Sie
haben durch aktive Unterstützung wie auch konstruk-
tives Laissez-faire zum Entstehen der Arbeit beige-
tragen.

Von der Laborassistenz von Herrn Dr. Kummermehr er-
hielt ich manchen praktischen Tip.

Die großzügige materiale Unterstützung durch die Gesell-
schaft für Strahlen-und Umweltforschung in Neuher-
berg bei München war eine *Conditio sine qua non* ge-
wesen.

Herr Professor Dr. Hug starb am 22.3.78. Sein Tod hat
mich sehr betroffen gemacht. Ihm möchte ich meine Ar-
beit in respektvoller und dankbarer Erinnerung widmen.

Inhaltsverzeichnis

1.	Einleitung	1
2.	Material, Methoden, Planung des Versuchs	2
2.1.	Versuchstiere	
2.2.	Tumorsystem	3
2.2.1.	Herkunft und Charakterisierung	
2.2.2.	Transplantation	
2.3.	Bestrahlung	6
2.4.	Beobachtungszeitraum nach Bestrahlung	8
2.4.1.	Messung der TumorgroÙe	
2.4.2.	Protokoll	9
2.5.	Versuchsaufbau und experimentelles Design	
2.5.1.	Einzeldosis-Experiment	
2.5.2.	"Split dose"-Experiment	10
2.6.	Datengewinnung und Auswertung	11
3.	Ergebnisse	13
3.1.	Verlauf nach Bestrahlung	
3.1.1.	Hautreaktion	
3.1.2.	Zweitumoren	
3.1.3.	Berücksichtigung der Mortalität bei der Auswertung	14
3.1.4.	TumorgroÙenverlauf nach Initialdosis	15
3.1.5.	TumorgroÙenverlauf nach Testdosis	16
3.1.6.	Vergleich des GroÙenverlaufs von geheilten und nicht geheilten Tumoren nach Testdosis	22
3.2.	Dosisabhängigkeit der Heilung	25
4.	Diskussion	34
4.1.	Zur Theorie der hypoxischen Zellen	
4.2.	Quantifizierende Methoden zur Bestimmung der hypoxischen Zellfraktion in Tumoren	36
4.3.	Die hypoxische Fraktion des Fibrosarkoms SSK 31 im Vergleich mit anderen Tiertumoren	
4.4.	Die Reoxygenierung des Fibrosarkoms SSK 31 nach einer Initialbestrahlung von 1300 rd	42
4.5.	Die Mechanismen der Reoxygenierung	52
4.6.	Die Bedeutung des quantitativen und zeitlichen Aspekts der Reoxygenierung für die Strahlentherapie	54
5.	Zusammenfassung	56
6.	Literaturverzeichnis	58

1. Einleitung

Die Erfolge der Strahlentherapie basieren wesentlich zum einen auf den Fortschritten auf dem technisch - physikalischen Sektor, zum anderen auf der Entwicklung der medizinischen Diagnostik, insbesondere der Krebsfrüherkennung; des weiteren auf der Anwendung neuerer tumorbiologischer Kenntnisse über Veränderungen der Strahlenempfindlichkeit im Verlauf einer fraktionierten Therapie.

Der Effekt fraktionierter Bestrahlung variiert einerseits mit den physikalischen Parametern des Bestrahlungsplanes, andererseits sind die Strahlenwirkungen von den Reaktionen des biologischen Systems abhängig. Neben Restitutionsprozessen wie der intrazellulären RepARATION von strahleninduzierten DNS-, Membran- und Chromosomenschäden und der Repopulation durch Zell - proliferation laufen Vorgänge in der Tumorzellpopulation ab, die die Strahlenempfindlichkeit während der Bestrahlungsperiode verändern. Die partielle Synchronisation, die Rekrutierung und die Reoxygenierung sind diejenigen zeitfaktorbestimmenden Mechanismen, die bei geeigneter Fraktionierung die Strahlensensibilität vor allem des Tumorgewebes erhöhen und wegen der relativen Schonung des Normalgewebes zur Überlegenheit der fraktionierten gegenüber der Einschlag - bestrahlung beitragen. Hug (1977) gibt hierüber eine zusammenfassende Übersicht.

Die vorliegende Arbeit möchte dazu beitragen, die strahlenbiologische Bedeutung der Reoxygenierung zu klären. Am Beispiel eines transplantablen Mäusesarkoms sollen der zeitliche und quantitative Verlauf der Reoxygenierung nach einer einmaligen Bestrahlung untersucht und mit den Daten referierter Arbeiten verglichen werden.

2. Material, Methoden, Planung des Versuchs

2.1. Versuchstiere

Die Versuche wurden im Institut für Biologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung in Neuherberg bei München durchgeführt.

Es wurden hierfür ingezüchtete weibliche C_{3H} -Mäuse des Stammes Neuherberg verwendet. Die Tiere wurden zu je fünf in regelmäßig mit Spreu versorgten Käfigen gehalten; sie erhielten einheitlich Altromin^R-Preßfutter und Wasser ad libitum.

Die klimatisierten Ställe waren konstant mit etwa 24 Grad Celsius temperiert.

2.2. Tumorsystem

2.2.1. Herkunft und Charakterisierung

Das Fibrosarkom SSK 31 wurde 1970 im Institut für Biologie der Gesellschaft für Strahlen- und Umweltforschung bei einer C_3H -Maus durch Pinselung der Haut mit Methylcholanthren induziert. Der Tumor wurde bis zur 17. Passage vital propagiert, dann in flüssigem Stickstoff konserviert. Von diesem Material ausgehend wurden für die vorliegenden Versuche jeweils maximal 10 fortlaufende Tierpasagen verwendet.

Histologisch handelt es sich um ein zellreiches spindelzelliges Fibrosarkom mit geringer Kollagenfaserproduktion. Es wächst über lange Zeit ohne massive Nekrosen und in kugelige Form.

Wachstumscharakteristik, Zellkinetik und strahlenbiologisches Verhalten des Tumors sind untersucht (Kummermehr und Trott, 1977 ; Trott et al., 1977).

2.2.2. Transplantation

Der Tumor wird syngenem weiblichen C_3H -Empfängertieren im Alter von acht Wochen subkutan in die rechte Flanke transplantiert.

Nach Tötung des Spendertieres mit Chloroform wird der Tumor entnommen, von adhärentem Gewebe befreit und in 1 mm dicke Scheiben geschnitten. Daraus gewinnt man nach eventueller Entfernung nekrotischer

Anteile Würfelchen mit 1 mm Kantenlänge und glatter Oberfläche.

Durch sorgfältige Spülung mit physiologischer Kochsalzlösung werden freie Zellverbände abgelöst. Die Inokulation erfolgt mittels Trokar, der peinlich akkurat mit einem sauberen Lämpchen gereinigt werden muß. Nur so läßt es sich vermeiden, daß angelagerte Tumorzellen im Stichkanal verschleppt und unerwünschte Zweittumoren erzeugt werden. Das Fibrosarkom SSK 31 kann durch eine einzige vitale klonogene Zelle überimpft werden, wie Experimente mit Verdünnungsserien von Tumorzellsuspensionen gezeigt haben.

Bei einer gewählten Zahl von Tieren wurde schon vor der Präparation des Tumors in transplantable Partikel die rechte Flanke von der Höhe des Hüftgelenkes bis in die Halsregion geschoren. Beim im Ätherrausch befindlichen Empfängertier schiebt man in der Mitte des Rückens die geschorene Haut, die zuvor mit 70 - prozentigem Alkohol desinfiziert wurde, zu einer Falte zusammen, die Nadel wird eingestochen und subkutan bis etwa 1 cm unterhalb der Skapularregion vorgeschoben; mit Hilfe des Mandrins wird das Tumorstückchen deponiert.

Innerhalb einer Woche wird ein solid-derbes Knötchen palpabel, dessen weiteres Wachstum mit externer Grössenmessung (siehe Abschnitt 2.3.1.) verfolgt wird. Zwischen den Tumoren bestehen große zeitliche Unterschiede im Erreichen der Versuchsgröße, die einem

Gewicht von 100 mg entspricht. Die Mehrzahl der Tumoren erreicht sie am 10. bis 12. Tag nach der Transplantation, und nur die in diesem Intervall anfallenden Tumoren wurden für die Bestrahlungen verwendet. Zu diesem Zeitpunkt beträgt die Tumorverdopplungszeit $1 \frac{3}{4}$ Tage.

Weiters wurde von den zur Bestrahlung kommenden Tumoren gefordert:

Eine intrathorax-laterale Lokalisation an der Flanke, etwa in Höhe der Thorax-Abdomen-Grenze. Dadurch konnte gewährleistet werden, daß neben dem Tumor nur wenig umgebende Thorax-Abdomen-Partien mitbestrahlt wurden. In den allermeisten Fällen kam die Wirbelsäule nicht in den von Fokus begrenzten Strahlenbündel zu liegen. Nur so lassen sich empfindlichere Verluste (Rückenmarkstrahlenschäden, Extremitätenlähmungen) in der Beobachtungsperiode vermeiden.

Die Tumoren mußten gegen ihre muskuläre Unterlage im Bereich der Thorax-Abdomen-Grenze verschieblich sein. Hierdurch sollte eine gewisse Standardisierung des Tumormaterials und der sog. anoxischen Bestrahlung erreicht werden.

Die Form des Tumors sollte möglichst kugelförmig sein, um der Eichung der Schablonenmessung (siehe 2.3.1) entsprechend gültige Größenmessungen vornehmen zu können.

Die so selektierten Tiere sind an der Stelle des Tumorknotens und seiner Umgebung nachgeschoren.

2.3. Bestrahlung

Alle Bestrahlungen wurden mit dem Röntgenapparat Typ MG 300 der Firma C.H.F. Müller durchgeführt. Die Röhrenspannung betrug 300 kV, der Röhrenstrom 10 mA. Eine 0,6 mm Kupfer- und eine 1,0 mm starke Aluminiumeinlage dienten als Filter.

Die Ausblendung des Strahlenfeldes erfolgte durch einen an das Röhrenfenster angeflanschten Messingtubus mit zwei Bleiblenden. Das kollimierte Strahlenbündel hatte am Tubusausgang einen Durchmesser von 20 mm. Wurde die Mitte des Tumors auf Tubus - unterkante justiert, betrug der Fokus-Tumorabstand 20 cm.

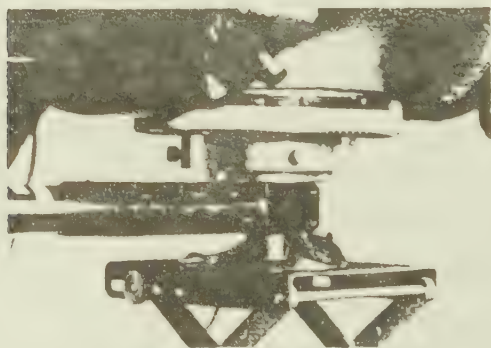


Abb. 2.1.

Die Abb. 2.1 zeigt die Bestrahlungsvorrichtung. Eine Maus mit Tumor ist auf einem Tischchen fixiert, das unter dem Tubus zentriert ist. Durch die seitliche Führung am Tubus ist das Dosimeter in den Strahlengang eingebracht, darüber sind der Kollimator und die Röntgenröhre zu sehen.

Am Tumor wurde bei dieser Anordnung eine Dosisleistung von ca. 400 R/min. erzielt. Zur Dosismessung wurde ein Radocon-Dosimeter der Victoreen Instrument Co., Cleveland, Ohio verwendet. Die Gasionisationskammer wurde durch eine Bohrung seitlich in den Tubus eingeführt. Die gewünschte Dosis wurde in einen am Zählgerät einstellbaren Wert umgerechnet; ihr Erreichen wurde akustisch signalisiert.

Die Versuchstiere wurden mit Hexobarbital-Natrium narkotisiert, damit sie im Strahlengang immobil bleiben. Zur Herstellung der 2 %-igen Injektionslösung wurden stets frisch 500 mg Hexobarbital in 25 ml Aqua dest. gelöst. Die Dosierung von 0,15 ml je Tier - intraperitoneal appliziert - erwies sich als ausreichend. Mehrfache Injektionen wurden komplikationslos toleriert.

Die narkotisierten Tiere wurden mit Klebestreifen an den Extremitäten auf in der Höhe kontinuierlich verstellbaren Trägereischen fixiert. Auf submaximale Streckung wurde geachtet, um keine reflexbedingten Zuckungen zu provozieren und die Blutzufuhr zum Tumor nicht zu beeinträchtigen. Die Bestrahlung der Tumoren erfolgte unter aeroben und anoxischen Bedingungen:

Anoxisch bedeutet: Fünf Minuten vor der Bestrahlung wird der Tumorknoten in einer Hautfalte gefaßt und

in eine verschraubbare Klemme aus Kunststoff eingelegt. Die Durchblutung des Tumors und des diesseitigen Hautareals ist damit komplett unterbrochen. Die Klemme wird fünf Minuten nach der Bestrahlung abgenommen, die Haut glatt gestrichen. Dieses Vorgehen hat keinen signifikanten Effekt auf die Wachstumsrate unbestrahlter Tumoren. Aerob erfolgte die Bestrahlung ohne Abklemmung.

2.4. Beobachtungszeitraum nach Bestrahlung

Die geheilten Tiere werden mindestens 5 Monate nach Bestrahlung beobachtet (Bowes, 1969 ; Suit et al., 1965). Die ersten beiden Monate wird der Größenverlauf der bestrahlten Tumoren zweimal je Woche durch eine Messung quantifiziert, in den anschließenden drei Monaten einmal wöchentlich, und protokolliert.

2.4.1. Messung der Tumorgroße

Bei der enormen Zahl von Messungen der Tumorgroße empfiehlt sich eine einfach zu handhabende, unaufwendige Meßtechnik mittels Schablone.

In einer Kunststoffschiene reihen sich eine Anzahl Bohrungen, deren Durchmesser um jeweils 0,3 mm zunehmen. Bei der Messung wird jene Bohrung bestimmt, in die der glatt geschorene Tumorknoten mit seinem Äquator gerade eben einzupassen ist. Diese Messung

liefert einen "Tumorflächenwert". Durch umfangreiche Kalibrierungsexperimente ist diesem Wert ein Tumorgewicht zugeordnet worden (Stiel et al., 1966).

Diese Skalierung der Bohrungen wurde über eine Eichkurve gewonnen: Eine größere Zahl von Messungen über einen gewünschten Bereich von Tumorgößen wird in der oben beschriebenen Weise durchgeführt und nach Resektion das Gewicht des Tumors bestimmt. Die für den jeweiligen Durchmesser gemittelten Werte ergeben die Punkte einer Eichkurve, die die Regression vom Durchmesser des Tumors auf sein Gewicht bzw. Volumen zulässt.

2.4.2. Protokoll

Der Größenverlauf der Tumoren wird protokolliert. Überschreitet die Größe 400-500 mg, so wird das Tier getötet. Der Tumor ist nicht geheilt.

Darüberhinaus werden alle sonstigen wichtigen Beobachtungen im Protokoll verzeichnet; z.B. Hautreaktionen, Zweittumoren, deren Operation, Allgemeinzustand, Tod eines Versuchstieres.

2.5. Versuchsaufbau und experimentelles Design

2.5.1. Einzeldosis-Experiment

Beim Einzeldosis-Experiment werden die für die

Bestrahlung ausgewählten Versuchstiere zufällig den festgelegten fünf verschiedenen Dosiswerten zwischen 5300 und 6700 rd zugeteilt, jeder Dosisgruppe 11 oder 12, wenigstens aber 10. (Dasselbe gilt für das "Split dose"-Experiment.) Die randomisierte Zuteilung erfolgte über Würfelereignisse: Den Zahlen 1 bis 5 waren die fünf verschiedenen Dosen zugeordnet; z.B. bedeutete für ein bestimmtes Tier die gewürfelte Zahl 1, daß es mit 5300 rd bestrahlt wurde, usw.

In diesem Versuchsteil erfolgten ausschließlich anoxische Bestrahlungen. Entsprechendes für die aerobe Bestrahlungsbedingung erübrigte sich, da ich hierfür auf vorliegende Daten zurückgreifen konnte.

Die Tiere werden wie ausführlich beschrieben mit der Tumorgröße zum Bestrahlungszeitpunkt ins Protokoll aufgenommen.

2.5.2. "Split dose"-Experiment

Beim "Split dose"-Experiment kommen die selektierten Tiere in der Reihenfolge ihrer Numerierung zur Vorbestrahlung (priming dose) mit 1300 rd unter aeroben Bedingungen. Beginn und Ende der Bestrahlungssitzung an jedem der drei Tage werden registriert. Das Zeitintervall, nach dem die Testdosis fällig wird, ist festgelegt: 1,2,

3 oder 4 Tage. Es ist für alle Tiere einer Transplantationspassage gleich.

Die Vorbestrahlung einer Gruppe von Tieren dauert weniger lange als ihre Testbestrahlung, bei der höhere Dosen gegeben werden. Dies wurde bei der zeitlichen Festlegung der Testbestrahlung so berücksichtigt, daß das tatsächliche Intervall für die eine Hälfte der Gruppe kürzer, für die andere länger als das gewünschte war.

Für jedes Tier wird nach dem Zufallsprinzip bestimmt, ob es aerob oder anoxisch bestrahlt wird: Gewürfelte Zahlen zwischen 1 und 3 teilten einem Tier die aerobe Bestrahlungsbedingung zu, 4 bis 6 Würfelgaben die anoxische. Die Dosiszuteilung ist der des Einzelosis-Experiments analog. Es folgt die Platzierung des Tieres mit seiner Tumorgroße zum Zeitpunkt der Testbestrahlung ins Protokoll.

2.6. Datengewinnung und Auswertung

Jedes Versuchstier wird, sofern es nicht aus der Auswertung eliminiert werden muß (z.B. wegen Lähmungen, inoperablen oder rezidivierenden Zweitumoren, usw.), nach der fünf-monatigen Kontrollperiode als "Heilung" oder "Rezidiv" resümiert. Beide Begriffe definieren das Resultat des beobachteten Tumorwachstums in plausibler Weise:

Wir sprechen von "Heilung", wenn der bestrahlte Tumor am Ende der Kontrollperiode völlig verschwunden ist oder nurmehr ein etwa stecknadelkopfgroßer, verrukös-derber Resttumor ohne Wachstumstendenz palpabel ist.

"Rezidiv" besagt, daß der Tumor eine Größe von 500 mg überschritten hat.

Für jede Dosengruppe wird der Prozentsatz der Heilungen errechnet. Hieraus ergeben sich, nach aerobier und anoxischer Bestrahlungsbedingung getrennt, für jedes Intervall zwischen Initial- und Festbestrahlung die Punkte für Dosisverfekturkurven, die die Abhängigkeit der lokalen Tumorneilung von der applizierten Strahlendosis ausweisen. In Analogie zu den in der experimentellen Pharmakologie geläufigen Begriffen der letalen Dosis, LD_{50} , Effektdosis, ED_{50} , wird jene Strahlendosis TD_{50} (tumour control dose) genannt, die in 50 % der damit behandelten Tumoren lokale Dauerheilung bewirkt.

Wie aus zahlreichen Untersuchungen bekannt, lassen sich die sigmoiden Dosiseffekturkurven in Form von Geraden darstellen, wenn man die Ordinate (Heilungsrate) im logit-Maßstab, die Abszisse (Strahlendosis) logarithmisch unterteilt (Suit et al., 1965).

Diese Regressionsgeraden wurden mittels eines vorprogrammierten Programmes in einer IRT-Anlage errechnet.

3. Ergebnisse

3.1. Verlauf nach Bestrahlung

3.1.1. Hautreaktion

Die regelmäßigen Messungen der Tumorgröße können in der 3. und 4. Woche nach der Testbestrahlung bisweilen nicht unerheblich durch eine im Bestrahlungsfeld lokalisierte Hautreaktion erschwert werden. Es treten in stadienhafter Abfolge ödematöse Schwellung, Rötung und trockene Schuppung, exsudative Desquamation und Defektheilung auf, bei den anoxisch bestrahlten Tieren mit Pigmentverlust der Haare, bei den aerob bestrahlten mit bleibender Epilation. Ulzera sind im allgemeinen nur an sehr großen, in die Epidermis einwachsenden Rezidiven zu beobachten.

3.1.2. Zweittumoren

Kommt es bei der Inokulation des Tumorpartikels zur Verschleppung von Zellen im Stichkanal, so können sich dem Primärtumor benachbarte Tumoren, Zweittumoren, entwickeln. Die Auftretenshäufigkeit variierte, stark von der Routine des Transplantateurs abhängig, zwischen 3 und 25 % des bestrahlten Kollektivs.

Liegen sie dem Primärtumor sehr nahe - weniger als ca. 5 mm - , so können sie wie ein Teil von ihm behandelt werden, da sie denselben Bestrah-

lungsbedingungen unterworfen sind.

Ist der Abstand größer, ergeben sich Dosisun-
sicherheiten, so daß man bei zweifelhaf-
tem den Zweittumor operativ zu entfernen ver-
suchte. Hierfür waren in der Regel weit über 80
Prozent der Fälle mit Zweittumoren geeignet, was
von wiederum mehr als 80 Prozent erfolgreich
operiert werden konnten, d.h. die betreffenden
Tiere konnten in die Auswertung aufgenommen wer-
den. Rezidive an der Resektionsstelle sind meist
inoperabel; diese Tiere wurden eliminiert.

3.1.3. Berücksichtigung der Mortalität bei der Auswer- tung

Kritisch sind die erste Woche und Ende des zwei-
ten bis Anfang des dritten Monats nach der Test-
bestrahlung. Zum letztgenannten Zeitpunkt geht
häufig eine längere Phase eines deutlich redu-
zierten Allgemeinzustandes voraus. In wenigen
Fällen treten Lähmungen der Extremitäten auf -
grund einer Bestrahlung des Rückenmarks auf.

Da bereits nach einer Beobachtungszeit von zwei
Monaten sicher zu erkennen ist, ob ein Tumor ge-
heilt wurde oder nicht, mußten nur ca. 3 % der
Tiere aus der Datengewinnung ausgeschlossen wer-
den, die vor dem Ende der 5-monatigen Kontroll-
periode starben.

Eliminiert wurden die Tiere, die vor dem Ende des zweiten Beobachtungsmonats starben und deren Tumorstadium noch keine sichere Bewertung als Heilung oder Rezidiv zuließ.

Tiere, die bis zum Ende des zweiten Monats nach Testbestrahlung kein Rezidiv bekamen, konnten sicher als Heilung beurteilt werden. (Siehe hierzu Punkt 3.1.6)

3.1.4. Tumorstadiumsverlauf nach Initialstadium

Die Abbildung 3.1. zeigt das Verhalten der Tumorstadiumsgröße nach aerober Bestrahlung mit 1300 rd im Vergleich zu unbestrahlten Tumoren.

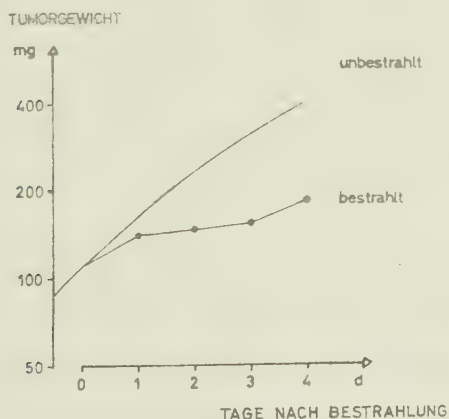


Abb. 3.1.

Tumorstadiumsverlauf nach 1300 rd im Vergleich zu der Wachstumskurve unbehandelter Tumoren.

Auf der Abszisse ist linear die Zeit nach der Initialbestrahlung, auf der logarithmisch geteilten Ordinate die Tumorgroße in Milligramm aufgetragen.

Die Punkte der Kurve wurden erhalten, indem über alle Tiere des "Split dose"-Experiments, zwischen deren Initial- und Testdosis ein bestimmtes Tage-Intervall lag, die bei der Testdosis gemessene Tumorgroße gemittelt wurde. Ausgehend vom Mittelwert des Sollgrößenbereichs (90-130 mg) für die Bestrahlungsauswahl führt die Initialdosis nach einem Tag - mit im Vergleich zur Kontrollkurve reduzierter Wachstumsrate - zu einer etwa zwei Tage andauernden Stagnation des Tumorwachstums. Zwischen dem dritten und vierten Tag setzt es wieder verstärkt ein, vergleichbar der anfänglichen Zuwachsrates am Tag nach der Initialbestrahlung.

3.1.5. Tumorgroßenverlauf nach Testdosis

An einigen Beispielen soll die fortlaufende Beobachtung und Messung der Tumorgroßenänderungen nach Gabe einer Testdosis veranschaulicht werden.

In den folgenden graphischen Darstellungen ist der Tumorgroßenverlauf über 2 Monate dargestellt. Auf der Abszisse ist die Zeit in Tagen, auf der logarithmisch geteilten Ordinate ist die Tumor-

größe in Milligramm aufgetragen.

Für jedes Tier wurde eine individuelle Kurve angelegt. Jeder Punkt gibt für ein bestimmtes Tier an, welche Tumorgroße am jeweiligen Tag nach Gabe der Testdosis gemessen wurde; sie wurden zu einem Polygonzug verbunden.

Die Beispiele berücksichtigen verschiedene Intervalle zwischen Initial- und Testdosis, verschiedene Heilungsraten und Dosiswerte und die Variable aerobe oder anoxische Bestrahlung.

TUMORGEWICHT

mg ▲

500 -

200 -

100 -

50 -

20 -

0

10

20

30

40

50

60

Tage nach 3550 rd

Abb. 3.2.

Tumorgroßenverlauf nach anoxisch applizierter Testdosis von 3550 rd zwei Tage nach der Initialbestrahlung.

Zur Abb. 3.2.:

Diese Gruppe von Versuchstieren wurde zwei Tage nach der Initialdosis mit 3550 rd unter anoxischen Bedingungen - durch O_2 kenntlich gemacht - bestrahlt, wodurch eine Heilungsrate von 9 % erzielt wurde. Man erkennt - läßt man den Größenverlauf des einen geheilten Tumors außer Acht - eine geringfügige Zunahme der Tumorgroße in den ersten Tagen nach Bestrahlung, die um den 5. Tag in eine erste, flach verlaufende Regressionsphase mündet; diese geht ca. am 11./12. Tag in eine steiler verlaufende Kurve über. Etwa ab dem 18. Tag beobachtet man wieder eine Größenzunahme, den Beginn des Rezidivwachstums.

TUMORGEWICHT

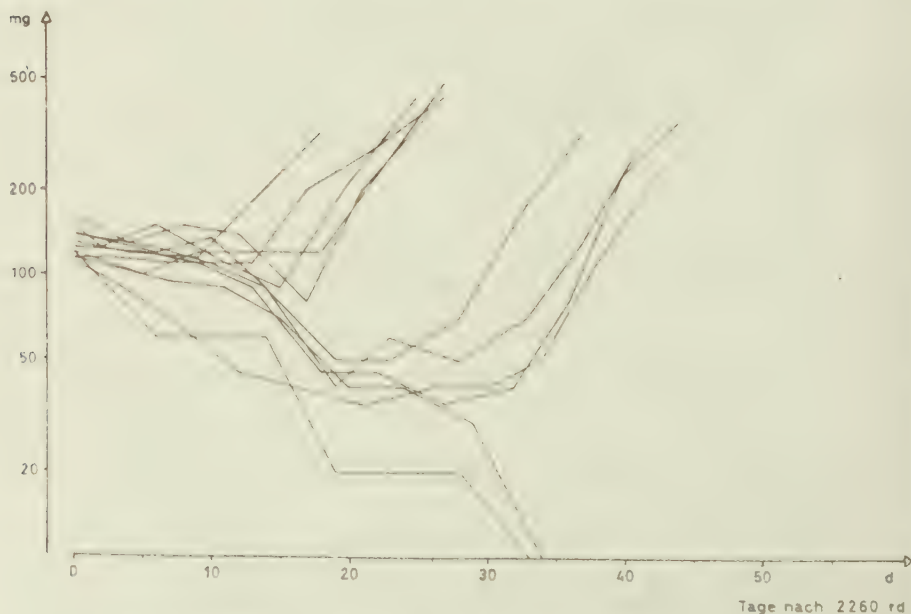


Abb. 3.3.

Tumorgroßenverlauf nach Testdosis von 2260 rd zwei Tage nach der Initialbestrahlung

Zur Abb. 3.3.:

Bei dieser Gruppe erfolgte die aerobe Testbestrahlung mit 2260 rd zwei Tage nach der Initialdosis; die Heilungsrate betrug 18 %.

Schon unmittelbar nach der Testbestrahlung beginnt die Regression der Tumoren, etwa am 11. Tag - mit Abb. 3.2. übereinstimmend - die steiler verlaufende Größenabnahme. Es zeichnen sich zwei Gruppen ab, deren Beginn des Rezidivwachstums differiert: für die eine Gruppe beginnt es zwischen dem 9. und 17. Tag mit einem Mittelwert von ca. 13 Tagen, für die andere Gruppe zwischen dem 19. und 27. Tag mit einem Mittelwert von etwa 22 Tagen. Besonders deutlich lassen sich diese beiden Gruppen anhand des quantitativen Aspekts des Regressionsverhaltens unterscheiden: Das gemittelte Regressionsmaximum liegt bei der Gruppe mit dem früheren Beginn des Rezidivwachstums bei 100 mg, das der anderen Gruppe bei 40 mg.

Es ist festzustellen, daß erst nach etwa 4-5 Wochen eine sichere Zuordnung der beiden Heilungen möglich ist.

Zur Abb. 3.4.:

Die anoxische Testbestrahlung mit 5600 rd erfolgte drei Tage nach Gabe der Initialdosis. Alle Tumoren wurden geheilt.

Die Tumoren verhalten sich uneinheitlich: Regressionen und Größenzunahmen stehen sich gegenüber.

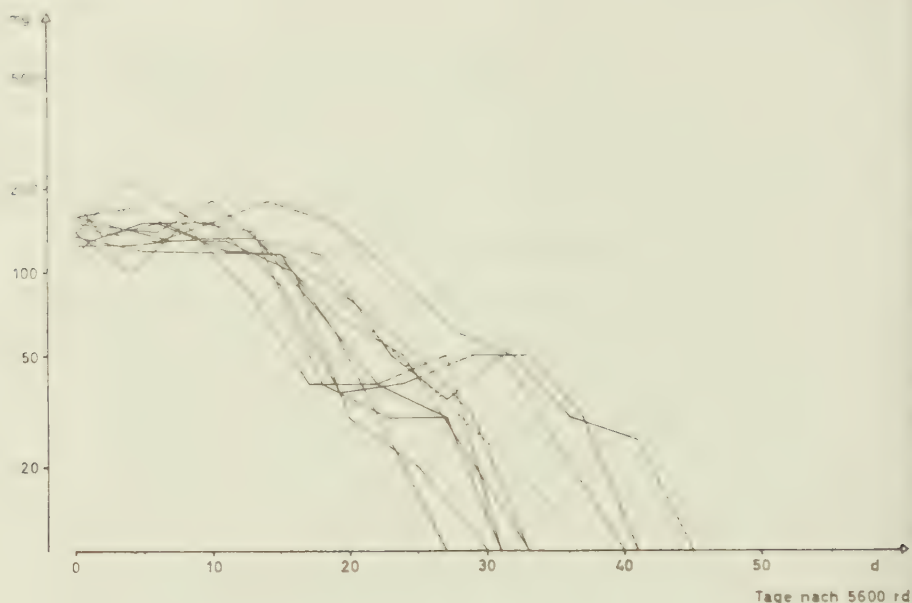


Abb. 3.4.

Tumorgrößenverlauf nach anoxisch applizierter Testdosis von 5600 rd drei Tage nach der Initialbestrahlung.

Eine gemittelte Größenverlaufskurve geht nach der Testdosis in ein bis zum 12./13. Tag dauerndes, stationäres Plateau über, dann beginnt eine Phase definitiver Schrumpfung, deren mittlere Rate mit Abb. 3.5. vergleichbar ist. Allerdings gibt es einige Tumoren, die um die 3./4. Woche eine kurzdauernde Unterbrechung der Regression mit geringer Größenzunahme beobachten lassen. Hierfür kann nicht allein die Mastreaktion verantwortlich gemacht werden, da diese Tumoren bei gleicher Schrumpfungsrates wie die übrigen erst merklich später verschwin-

den. Zwischen dem 24. und 42. Tag erreichen alle Tumoren das 20 mg-Niveau, also innerhalb eines Intervalls von 18 Tagen.

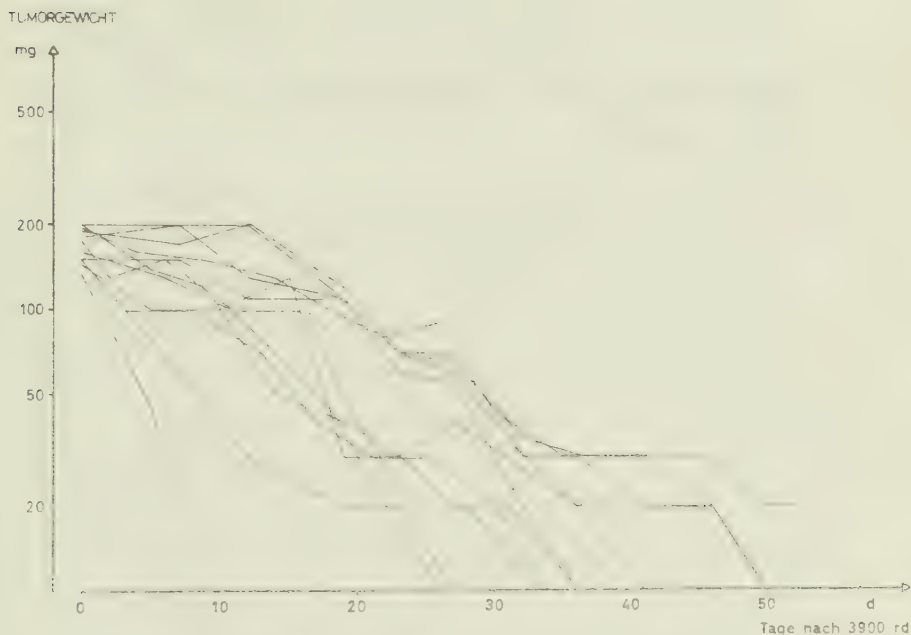


Abb. 3.5.

Tumorgrößenverlauf nach einer Testdosis von 3900 rd drei Tage nach der Initialbestrahlung

Zur Abb. 3.5.:

Bei dieser Gruppe wurde drei Tage nach der Initialdosis die Testdosis von 3900 rd aerob appliziert, die eine Heilungsrate von 92 % bewirkte.

Diese Tumoren gehen in einem Zeitraum von 18 Tagen in eine flach verlaufende Regression ein, deren

Neigung nimmt um den 11. Tag zu, ihr gemittelter Wert ist mit Abb. 3.4. vergleichbar.

Auf dem 30 mg-Niveau lassen sich zwei Gruppen von Tumoren unterscheiden: die eine erreicht es in 19-23 Tagen, die andere in 30-36. Übergänge zwischen den beiden Gruppen sind erkennbar, vergleicht man sie auf dem 20 mg-Niveau. Dieses wird von den verschiedenen Tumoren in einem Zeitraum von ca. 30 Tagen erreicht.

3.1.6. Vergleich des Größenverlaufs von geheilten und nicht geheilten Tumoren nach Testdosis

Die Abbildungen 3.6. und 3.7. sind in oben beschriebener Weise erstellt worden.

TUMORGEWICHT

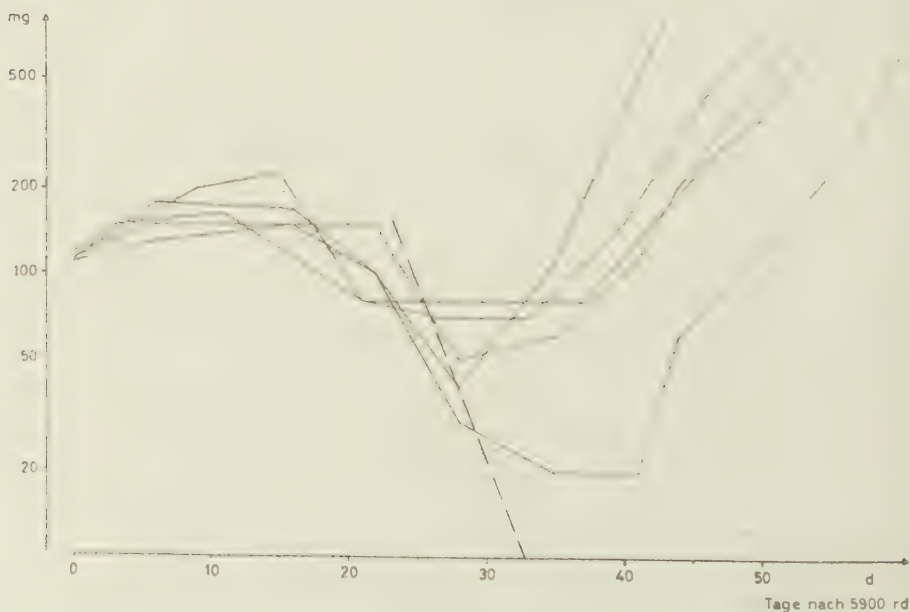


Abb. 3.6.
Vergleich des Größenverlaufs von geheilten und nicht geheilten Tumoren nach anoxisch applizierter Einzeldosis von 5900 rd.

In der Abb. 3.6. ist der Größenverlauf einer Gruppe von Tumoren graphisch dargestellt, die mit einer Einzeldosis von 5900 rd unter anoxischen Bedingungen bestrahlt wurden. In 54 % führte diese Behandlung zur Heilung.

Der Größenverlauf ist für die Heilungen und die Rezidive bis zum Ende der 4. Woche nahezu identisch: Nach der Bestrahlung nimmt die Tumorgröße zu, bis zum 10.-12. Tag wird in sich abflachendem Verlauf ein Maximum erreicht, nimmt dann mit einer Neigung ab, die der anfänglichen Zuwachsrate vergleichbar ist, und geht etwa mit Beginn der 3. Woche in ein steil verlaufendes Schrumpfungsstadium über.

Während die Heilungen kontinuierlich bis zum 32. Tag etwa auf das 10 mg-Niveau abfallen, tritt demgegenüber die Mehrzahl der Rezidive, die die 40 mg-Schwelle nicht unterschreitet, in der 5. Woche mit einer mittleren Tumorverdopplungszeit von 4 Tagen in eine Phase definitiver Größenzunahme ein. In einem Fall wird die Regression bis auf das 20 mg-Niveau fortgesetzt. Erst zu Beginn der 7. Woche setzt definitives Rezidivwachstum ein.

Es zeigt sich, daß Heilungen frühestens nach 1 1/2 Monaten sicher zu erkennen sind. Die Mehrzahl der Rezidive ist allerdings schon früher, etwa nach 4 Wochen erkennbar.

TUMORGEWICHT

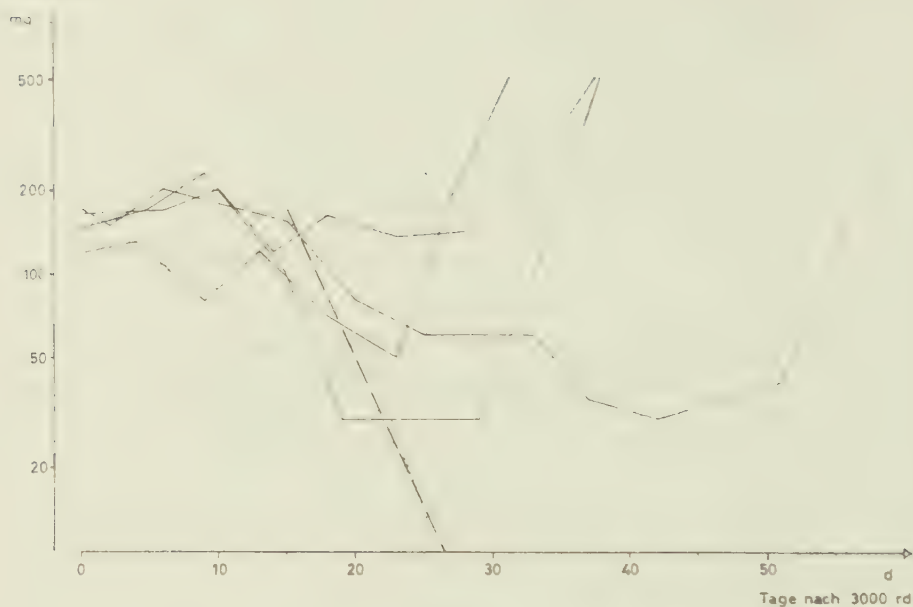


Abb. 3.7.

Vergleich des Größenverlaufs von geheilten und nicht geheilten Tumoren nach einer aerob applizierten Dosis von 3000 rd drei Tage nach der Initialbestrahlung.

Zur Abb. 3.7.:

Dieser Gruppe wurde am 3. Tag nach der Initialbestrahlung die Testdosis von 3000 rd aerob gegeben; sie bewirkte eine Heilungsrate von 60 %.

Zwar ist der Größenverlauf im Vergleich zu Abb. 3.6. relativ stark streuend, es lassen sich aber keine prinzipiellen Unterschiede zwischen den Gruppen der Heilungen und Rezidive ausmachen.

Einer höchstens minimalen Größenzunahme folgt etwa am

12. Tag der allmähliche Übergang in das steil verlaufende Regressionsstadium, das die meisten Heilungen kontinuierlich bis zum 10 mg-Niveau oder völligen Verschwinden beibehalten. Etwa am Ende der 4. Woche beginnen die meisten Rezidive von sehr unterschiedlichem Niveau aus mit der definitiven Größenzunahme.

Je eine Heilung und ein Rezidiv sind vom Gros durch eine verzögerte und verlangsamte bzw. eine nur verlangsamte Regression deutlich abgesetzt.

3.2. Dosisabhängigkeit der Heilung

Die Tabelle 3.1. gibt eine Übersicht über die unter den verschiedenen Bestrahlungsbedingungen erzielten Heilungsraten. Sie folgern aus der Zahl der Heilungen in den einzelnen Gruppen bestrahlter Tiere. O_2 symbolisiert die aerobe, $\emptyset_2$ die anoxische Gabe der betreffenden Dosen.

Die graphischen Darstellungen 3.8. - 3.12. zeigen die Abhängigkeit der Tumorheilungsrate für ein 5-Monate-Intervall nach Bestrahlung für die verschiedenen Bedingungen des Bestrahlungsplanes.

Die Abszisse (Dosis in rd) ist jeweils logarithmisch skaliert, die Ordinate (Heilungsrate in Prozent) nach dem Gaußschen Integral geteilt.

Die Werte, von denen jeder eine Dosisgruppe unter den je verschiedenen Bedingungen des Bestrahlungs-

		Dosis in rd	Zahl der geheilten Tiere	Zahl der bestrahl- ten Tiere	Heilungs- rate in Prozent
Einzeldosis- Experiment	0 ₂	3000	1	54	2
		3500	6	38	16
		4000	20	58	34
		4500	9	24	40
		5000	23	34	68
		5500	20	26	77
		6000	22	25	88
	ø ₂	5300	0	11	0
		5600	2	10	20
		5900	6	11	54
		6300	11	12	92
		6700	10	11	91
Split dose- Experiment	0 ₂	3220	3	11	27
		3550	3	10	30
		3870	8	11	73
		4200	8	9	89
		4620	9	11	82
	ø ₂	3550	1	11	9
		3870	1	11	9
		4200	4	11	36
		4620	4	11	36
		5050	7	12	58
	1-Tage- Intervall	2260	2	11	18
		2580	1	10	10
		2900	8	11	73
		3220	7	11	61
		3220	7	9	78
		3550	8	11	73
		3870	10	11	91
		4200	8	11	73
		4620	10	11	91
	ø ₂	3550	1	11	9
		3870	4	11	36
		4200	4	11	36
		4620	5	11	45
		4620	7	10	70
		5050	8	11	73
2-Tage- Intervall	0 ₂	2100	2	10	20
		2400	2	11	18
		2700	3	10	30
		3000	6	10	60
		3220	7	10	70
		3550	7	8	87
		3870	11	12	92
		4200	11	13	85
3-Tage- Intervall	0 ₂	2100	2	10	20
		2400	2	11	18
		2700	3	10	30
		3000	6	10	60
		3220	7	10	70
		3550	7	8	87
		3870	11	12	92
		4200	11	13	85

		Dosis in rd	Zahl der geheilten Tiere	Zahl der bestrahl- ten Tiere	Heilungs- rate in Prozent
Split dose- Experiment	$\emptyset_2$	2700	1	10	10
		3000	0	10	0
3-Tage- Intervall		3300	4	9	44
		3550	3	9	33
		3870	2	9	22
		3900	5	9	55
		4200	2	9	22
		4620	7	14	50
		5100	9	9	100
		5600	10	10	100
4-Tage- Intervall	$\emptyset_2$	3220	6	11	54
		3550	7	12	58
		3870	7	11	64
		4200	7	8	87
		4620	10	10	100
	$\emptyset_2$	3550	5	12	42
		3870	5	11	45
		4200	9	11	82
		4620	7	10	70
		5050	9	11	82

Tabelle 3.1.

Übersicht über die unter den verschiedenen Bestrahlungsbedingungen erzielten Heilungsraten. $\emptyset_2$ symbolisiert die aerobe, $\emptyset_2$ die anoxische Gabe der betreffenden Dosen.

plans darstellt, wurden durch Kreise markiert, wenn sie unter aeroben Bedingungen bestrahlte Tumoren repräsentieren; Punkte bilden Tumoren ab, die anoxisch bestrahlt wurden.

Existierten für einen Dosiswert mehr als eine Testgruppe vergleichbaren Umfangs, wurde nicht ein gewichtetes Mittel errechnet, sondern jede Heilungsquote einzeln aufgeführt, um einen Eindruck von der metho-

disch bedingten "Streuungsbreite" mitzuliefern. Hierfür ist in erster Linie die geringe Zahl von Tieren pro Testgruppe verantwortlich.

Die Werte für die eingetragenen Geraden wurden durch ein Probit-Analyse-Programm errechnet.

Die leeren und gefüllten Dreiecke markieren je den Schnittpunkt der Geraden mit der 50 % -Schwelle, geben eine mittlere Schätzung für $TCD_{50} O_2$ bzw. $TCD_{50} \varnothing_2$, den TCD_{50} -Wert bei aerober bzw. anoxischer Bestrahlung. Die zugehörigen Balken geben den Bereich (Konfidenzintervall) an, wo mit 95 % Wahrscheinlichkeit der betreffende TCD_{50} -Wert zu liegen käme, schließt man von den vorliegenden Daten der Stichprobe auf die zugehörige Grundgesamtheit der so bestrahlten Tumoren.

Zur Abbildung 3.8.:

Fünf Gruppen von Tumoren wurden anoxisch mit Einzeldosen zwischen 5300 und 6700 rd bestrahlt. Die rechnerisch ermittelte $TCD_{50} \varnothing_2$ hat ein 95%-Konfidenzintervall von 5750 bis 6100 rd, das entspricht einer Spanne von 350 rd. Die Daten für die Serie aerober Bestrahlungen standen mir aus vorliegenden Untersuchungen zur Verfügung (Trott et al., 1977).

Zur Abbildung 3.9.:

Alle Tiere wurden einen Tag nach der Initialdosis von 1300 rd mit Testdosen behandelt, die für die aerob bestrahlten Gruppen zwischen 3220 und 4620 rd, für die anoxisch bestrahlten zwischen 3950 und 5050 rd lagen. Die errechnete $TCD_{50} O_2$ betrug 3630 rd, das 95%-Konfidenzintervall von 3250 - 3890 rd umfaßte 640 rd, die

$TCD_{50} \varnothing_2 4840 \text{ rd} (4460 - 6290 = 1830 \text{ rd}).$

HEILUNGS-
RATE

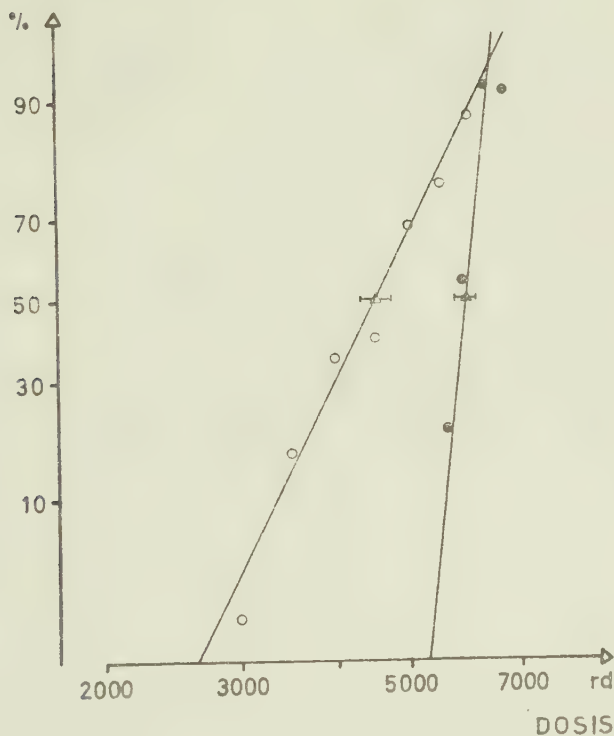


Abb. 3.8.

Dosisabhängigkeit der Tumorheilung. Darstellung der Dosis-effektkurven nach aerober und anoxischer Einschlagbestrahlung im Wahrscheinlichkeitsnetz mit logarithmischer Dosis-skala. Kreise und Punkte stellen die Ergebnisse der aeroben bzw. anoxischen Bestrahlungen dar, Dreiecke markieren die Schnittpunkte der Dosiseffektkurven mit der 50%-Schwelle, die Balken repräsentieren die 95%-Konfidenzintervalle der TCD_{50} -Werte.

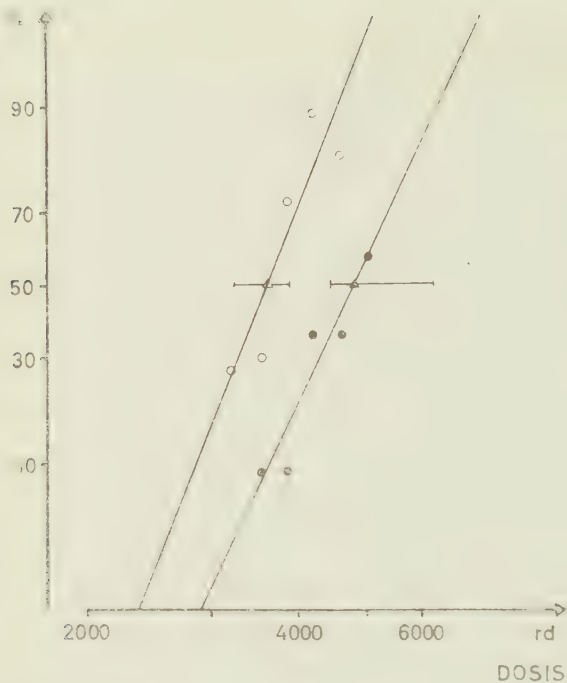


Abb. 3.9.

Dosisabhängigkeit der Tumorheilung bei einem Dosisintervall von 1 Tag. Die aerobe (o) bzw. anoxische (●) Testdosis ist gegen die kumulative Heilungswahrscheinlichkeit aufgetragen.



Abb. 3.10.

Dosisabhängigkeit der Tumorheilung bei einem Dosisintervall von 2 Tagen. Die aerobe (o) bzw. anoxische (●) Testdosis ist gegen die kumulative Heilungswahrscheinlichkeit aufgetragen.

HEILUNGSRATE

↑ ↑
● ●

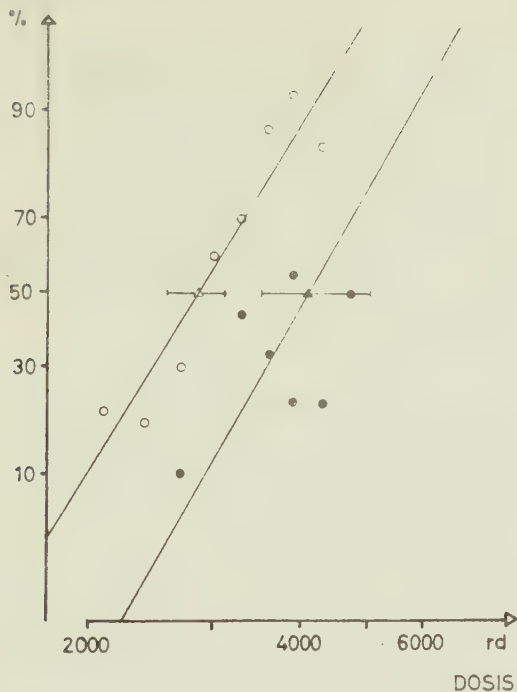


Abb. 3.11.

Dosisabhängigkeit der Tumorerheilung bei einem Dosisintervall von 3 Tagen. Die aerobe (o) bzw. anaerobische (●) Testdosis ist gegen die kumulative Heilungswahrscheinlichkeit aufgetragen.

HEILUNGSRATE

↑
o

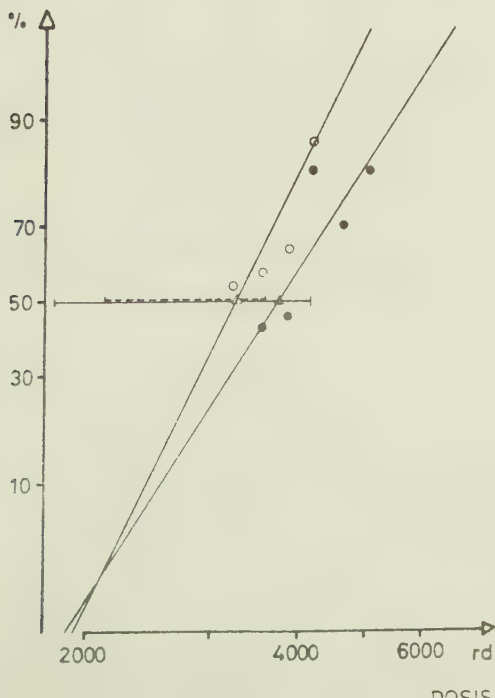


Abb. 3.12.

Dosisabhängigkeit der Tumorerheilung bei einem Dosisintervall von 4 Tagen. Die aerobe (o) bzw. anaerobische (●) Testdosis ist gegen die kumulative Heilungswahrscheinlichkeit aufgetragen.

Zur Abbildung 3.10.:

Zwischen Initial- und Testdosis lag ein Intervall von zwei Tagen. Die aerob gegebenen Testdosen umspannten einen Bereich von 2260 - 4620 rd mit einer mittleren $TCD_{50} O_2$ von 2910 rd ($2550 - 3180 = 630$ rd), die anoxisch gegebenen von 3550 - 5050 rd mit einer $TCD_{50} O_2$ von 4440 rd ($4120 - 4910 = 790$ rd).

Zur Abbildung 3.11.:

Drei Tage nach der Initialdosis erfolgte die Testbestrahlung, aerob mit Dosen zwischen 2100 und 4200 rd mit einer zugehörigen $TCD_{50} O_2$ von 2880 rd ($2590 - 3150 = 560$ rd), anoxisch mit Dosen zwischen 2700 und 5600 rd, die $TCD_{50} O_2$ betrug 4130 rd ($3540 - 5040 = 1500$ rd). Dieses große Konfidenzintervall ist Folge der Inkonsistenz der Werte, der Rechner konstatierte die Heterogenität des zugrundegelegten Materials.

Zur Abbildung 3.12.:

Sie stellt die Dosiseffekturven der vier Tage nach der Initialdosis applizierten Testbestrahlung dar. Die aerob verabreichten Dosen umfaßten Werte zwischen 3220 und 4620 rd, die anoxisch gegebenen lagen zwischen 3550 und 5050 rd. Die $TCD_{50} O_2$ war 3270 rd ($2120 - 3590 = 1470$ rd), die $TCD_{50} O_2$ 3760 rd ($1800 - 4180 = 2380$ rd).

Die erhebliche Spanne der Konfidenzintervalle ist weniger die Folge einer massiven Inkonsistenz der Teilungsraten, als vielmehr dadurch bedingt, daß die aerobe Bestrahlung nur Teilungsraten zwischen 55 und

100 % bewirkte, die für die anoxische Bestrahlung gewählten Dosen hingegen Heilungsraten zwischen 42 und 82 % . Dies hat eine große "statistische Unsicherheit" bei der Bestimmung der Regressionsgeraden zur Folge.

Die Tabelle 3.2. faßt die für die verschiedenen Bestrahlungsbedingungen errechneten TCD_{50} -Werte zusammen (in Parenthese die 95 % -Konfidenzintervalle). Bei den Werten für das Split dose-Experiment ist die Vorbestrahlung nicht berücksichtigt.

	$TCD_{50} O_2$ rd	$TCD_{50} \emptyset_2$ rd	$TCD_{50} \emptyset - TCD_{50} O_2$	INTERVALL
EINZELDOSIS-EXPERIMENT	4530 1) (4340-4750)	5920 (5750-6100)	1390	—
SPLIT DOSE-EXPERIMENT	3630 (3250-3890)	4840 (4460-6290)	1210	1 Tag
	2910 (2550-3180)	4440 (4120-4910)	1530	2 Tage
	2880 (2590-3150)	4130 (3540-5040)	1250	3 Tage
	3270 (2120-3590)	3760 (1800-4180)	490	4 Tage

1) TROTT et al. (1977)

Tab. 3.2.

Tabellarische Zusammenfassung der TCD_{50} -Werte. In Klammern stehen die 95 % -Konfidenzintervalle. Die Werte des Split dose-Experiments berücksichtigen die Initialdosis von 1300 rd nicht. 1) Trott et al. (1977).

4. Diskussion

4.1. Zur Theorie der hypoxischen Zellen

Für die Strahlenempfindlichkeit von Tumoren sind nicht allein die eigentlichen Tumorzellen von Bedeutung. Auch die Ausstattung mit Gefäßen und die Blutversorgung spielen hierfür eine große Rolle, da der Sauerstofftransport zu den Tumorzellen von ihnen abhängig ist.

Die Sauerstoffversorgung wird entsprechend der histologischen Architektur des Tumors variieren: Für die Tumorzellen in Bezirken größerer Distanz zum Stroma wird die Sauerstoffversorgungslage entsprechend des Diffusionsgradienten und des Verbrauchs schlechter sein als für die kapillarnahen Zellen.

Entscheidenden Impuls für diese Modellvorstellung gaben die histomorphologischen Befunde, wie sie von Thomlinson und Gray (1954) und später von Tan-nock (1969) erarbeitet wurden. Ihre Übereinstimmung mit theoretischen Berechnungen des Sauerstoffgradienten in Geweben legte die Basis für eine solche Betrachtungsweise.

Die Kenntnis der strahlenbiologischen Bedeutung der O_2 -Konzentration legte die Annahme nahe, daß die Population der hypoxischen Zellen wesentlich für die Strahlenresistenz von Tumoren verantwortlich sei, und führte zur funktionellen Definition

der "effektiv hypoxischen Zellen"; sie basiert auf der meßbaren strahlenbiologischen Wirkung unterschiedlicher O_2 -Konzentrationen in Geweben bzw. Zellkulturen.

Bleiben wir uns der starken Vereinfachung dieses theoretischen Konzepts bewußt. Die Grenzziehung zwischen der euoxischen und hypoxischen Zellpopulation ist bis zu einem gewissen Grad willkürlich. In Übereinstimmung mit Tannock (1972) nehmen wir an, daß sich in einer Tumorzellpopulation jede mögliche Graduierung der O_2 -Versorgung und ihrer Tolerierung durch die individuelle Zelle findet. Wir abstrahieren zunächst ferner von der zeitlichen Dynamik und beschränken uns auf die Betrachtung einer Momentaufnahme. Wir lassen die vielen denkbaren Variablen unberücksichtigt, die Einfluß auf das O_2 -Angebot an die Tumorzellen nehmen könnten.

Die euoxischen und hypoxischen Zellen unterscheiden sich in ihrer Strahlenresistenz, die histopathologische Spezifizierung des Tumors spielt demgegenüber nur eine untergeordnete Rolle. Die euoxischen Zellen sind gegenüber Strahlen niedriger LET um das Zwei- bis Dreifache strahlenempfindlicher. Demnach ist für die strahlentherapeutische Kurabilität von Tumoren die Frage nach dem Umfang und der biologischen Bedeutung des Kompartiments hypoxischer Zellen zu einem entscheidenden Problem geworden.

4.2. Quantifizierende Methoden zur Bestimmung der hypoxischen Zellfraktion in Tumoren

Zwar legten der histologische Nachweis der spezifischen Anordnung nekrotischer Bezirke in menschlichen Tumoren und die theoretischen Berechnungen des O_2 -Verteilungsmusters in Geweben die Existenz hypoxischer Zellen nahe; bislang konnte jedoch keine Methode entwickelt werden, die eine direkte Bestimmung der hypoxischen Zellen im Gewebe zuließe. So scheiterten jahrelange polarographische Versuche. Eine valide histochemische Methode existiert nicht.

Die verfügbaren indirekten Methoden lassen sich in zwei Gruppen unterteilen:

Wie eine umfaßt solche, die den Anteil hypoxischer Zellen an der Gesamtzellpopulation des Tumors (hypoxische Fraktion) über die Relation ermittelter Zellüberlebensraten ermitteln. Nach aeroter oder anoxischer in-situ-Bestrahlung werden die Tumoren entnommen, Einzelselluspensionen mit verschiedenen Titrationsgradienten hergestellt und auf ihre Klonogenität getestet: als in-vitro-Verfahren in der Zellkultur (Barendsen und Proerse, 1969); als in-vivo-Methode in Versuchstieren, denen die Tumorzellsuspensionen überimpft werden ("end-point dilution assay" nach Hewitt, 1953). Hierbei wird kontrolliert, ob an der Inokulationsstelle ein Tumor entsteht.

Für die unbestrahlten Tumoren und für jede applizierte Dosis wird die Zellzahl bestimmt, die in 50 Prozent der Inokulationen einen Tumor induziert (TD_{50}). Der Quotient der TD_{50} unbestrahlter und bestrahlter Tumoren gibt für jede Dosis die Überlebensfraktion an.

Für die aerobe und anoxische Bestrahlung resultieren zwei verschiedene Zellinaktivierungskurven. Aus der Relation dieser Kurven kann die relative Größe der euoxischen und anoxischen Zellkompartimente abgeschätzt werden.

ÜBERLEBENSRATE

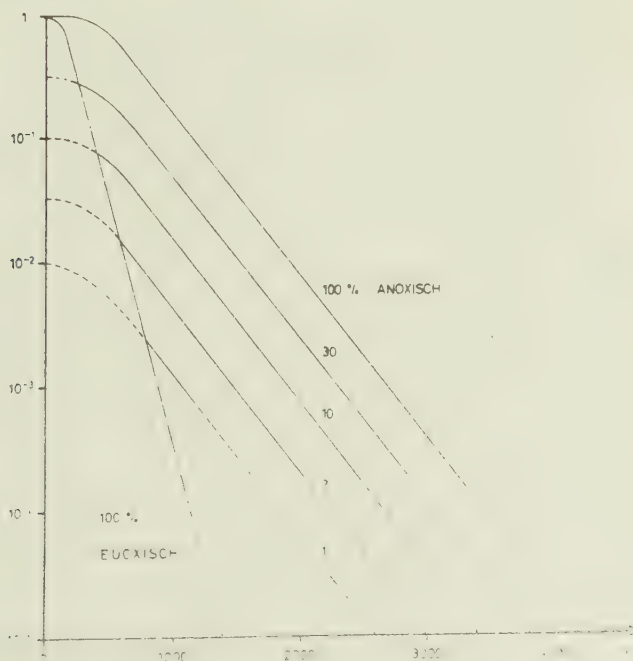


Abb. 4.1.

Zellüberlebenskurven für Tumorzellpopulationen mit unterschiedlicher hypoxischer Fraktion. Modifiziert nach Kallman (1972).

Die Abbildung 4.1. zeigt den Verlauf der theoretischen Zellüberlebenskurven für Zellpopulationen, die verschiedene große Subpopulationen hypoxischer Zellen enthalten. Der Kurvenverlauf der ausschließlich hypoxischen Zellen unterscheidet sich prinzipiell von den übrigen. Besitzt eine Zellpopulation einen Anteil euoxischer Zellen, schließt sich an die initiale "Schulter" ein steil verlaufendes Kurvenstück an. Seine Neigung repräsentiert die höhere Strahlenempfindlichkeit der euoxischen Subpopulation. Ab einer gewissen Strahlendosis münden diese steileren Abschnitte in einen flacheren Verlauf ein. Er ist für alle Kurven annähernd gleich. Die Neigung dieser terminalen Kurvenabschnitte ist im wesentlichen durch die Strahlenempfindlichkeit der hypoxischen Zellen definiert. Vereinfachend gesagt, beginnen sie mit der Dosis, die absolut mehr hypoxische als euoxische Zellen überleben läßt. Man erkennt somit leicht, daß der ordinatenparallele Abstand der terminalen Abschnitte der Zellinaktivierungskurven ein Maß für die relative Größe der euoxischen bzw. hypoxischen Zellpopulation liefert.

Der Koloniebildungstest und die entsprechende TD_{50} -in-vivo-Methode führen zu übereinstimmenden Ergebnissen wie Rockwell und Kallman (1973) an einem Tumorsystem (EMT 6) gezeigt haben, das nach beiden Methoden getestet werden kann. Allerdings wurden

von McNally (1973) konträre Befunde vorgelegt. Zur zweiten Gruppe von indirekten Methoden zur quantitativen Bestimmung der hypoxischen Fraktion gehört das hier verwendete Verfahren. Seine Dosis-effektkurven beschreiben die Abhängigkeit der in-situ-Heilungsrate von Tumoren unter aeroben und anoxischen Bestrahlungsbedingungen. Mit den resultierenden TCD₅₀-Werten geht man in das oben mit seinen theoretischen Implikationen beschriebene Modell von Powers und Tolmach (1964) ein (S.37). Dies ist an der Abb. 4.2. anschaulich zu explizieren.

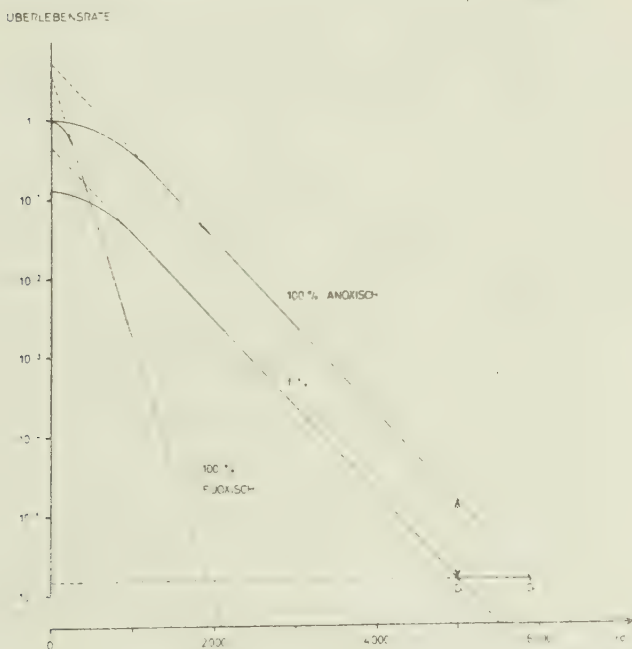


Abb. 4.2.

Zellüberlebenskurven für Tumorzellpopulationen mit unterschiedlicher hypoxischer Fraktion. Modifiziert nach Howes (1969).

Man greift die Differenz der TCD_{50} -Werte auf der Abszisse ab und legt diese Strecke abszissenparallel an den terminalen Abschnitt der Überlebenskurve für die rein hypoxische Zellpopulation an. Damit ist die Kurve für die gemischte Zellpopulation definiert und die oben angeführte Interpretation des ordinatenparallelen Abstands der beiden Überlebenskurven möglich.

Eine vereinfachte Betrachtung der Überlebensraten der einzelnen Zellkompartimente führt zu der Gleichung

$$f = \frac{e^{-\frac{TCD_{50}^{O_2}}{m \times D_0}} - e^{-\frac{TCD_{50}^{O_2}}{D_0}}}{e^{-\frac{TCD_{50}^{O_2}}{m \times D_0}} - e^{-\frac{TCD_{50}^{O_2}}{D_0}}},$$

die eine Schätzung der hypoxischen Fraktion (f) erlaubt. Howes (1969).

Dabei bedeutet D_0 diejenige Dosis, die im exponentiellen Bereich der Überlebenskurve eine gewählte Population rein euoxischer Zellen auf 37 % der Ausgangszellzahl reduziert; für D_0 wurde ein Wert von 120 rd, für m, den OER-Faktor (oxygen enhancement ratio), ein Wert von 2,9 angenommen.

Unsere Berechnung nimmt also auf Angaben über die zelluläre Strahlenempfindlichkeit Bezug, die der Analyse von in-vitro-Zellüberlebenskurven entstammen: m und D_0 .

4.3. Die hypoxische Fraktion des Fibrosarkoms SSK 31 im Vergleich mit anderen Tiertumoren

Für die hypoxische Fraktion des Fibrosarkoms SSK 31 konnte mittels der zitierten Formel im Einzeldosis-Experiment ein Wert von 2 % errechnet werden.

Kallman (1972) referiert die Ergebnisse einer Reihe von Autoren, die mit verschiedenen Untersuchungsmethoden die hypoxische Fraktion in diversen Tumoren bestimmt haben. Die Mehrzahl der Tumoren hatte etwa zwischen 15 und 25 % hypoxische Zellen (10 Untersuchungen). Drei Untersuchungen erbrachten davon deutlich abweichende Werte. 1 % für ein Lymphosarkom, 34 % und 50 % für zwei andere Sarkome.

Geht man der Frage nach, ob zwischen den Testmethoden und ihren Ergebnissen eine Korrelation besteht, so ergibt eine Übersicht keinen signifikanten Anhalt: die am häufigsten verwendete Methode, die hypoxische Fraktion von den nach dem TD_{50} -Prinzip erstellten Zellüberlebenskurven abzuleiten, ist im mittleren wie im extremen Wertebereich zu finden. Die nach der TCD_{50} -Methode erhaltenen Werte schließen sich dem mittleren Bereich an.

Auch für die verschiedenen histologischen Tumortypen läßt sich keine schlüssige Korrelation angeben. Hierfür ist allein schon die Zahl der vor-

liegenden Untersuchungen zu gering.

Mir erscheint der Hinweis von Kallman (1972) sehr wichtig, daß diese von ihm zusammengestellten Daten ausschließlichen Tiertumoren betreffen und die für diese Untersuchungen verwendeten Methoden geradezu auf schnell wachsende Tumoren angewiesen sind. Die meisten menschlichen Tumoren unterscheiden sich jedoch durch beträchtlich geringere Wachstumsraten. Hier ließen sich Spekulationen bezüglich ihres 'Oxygenierungsstatus' und -verlaufs nach Bestrahlung anknüpfen.

4.4. Die Reoxygenierung des Fibrosarkoms 35K 31 nach einer Initialbestrahlung von 1300 rd

Wie aus der Abbildung 4.1. ersichtlich, wird selbst eine hypoxische Fraktion von nur 1 % bewirken, daß die Überlebenskurve der betreffenden Tumorzellpopulation etwa ab 1000 rd von der Strahlenresistenz der hypoxischen Zellen bestimmt wird. Somit wären für die Inaktivierung aller klonogenen Zellen eines gemischten Tumors strahlentherapeutisch inpraktikabel hohe Strahlendosen notwendig, existierte nicht eine Reihe von Faktoren, die hier therapiefördernd eingriffen: so z.B. die verminderte Erholungsfähigkeit der hypoxischen Zellen, die durch Bestrahlung verbesserte Mikrozirkulation, Gefäß- und andere gewebliche Reaktionen nach Bestrahlung und die Reoxygenierung (Trott, 1972).

Der Begriff der Reoxygenierung wurde von van Putten

und Kallman (1966) eingeführt. Er bringt die plausible Annahme zum Ausdruck, daß die beobachtbare Wiederzunahme der Strahlenempfindlichkeit von Tumoren nach einer Bestrahlung darauf zurückzuführen sei, daß die hypoxischen Zellen durch die Änderung ihrer Umgebungsbedingungen in eukalyische transfe -
riert werden. Zur Diskussion der angebbaren Mechanismen siehe unter Punkt 4.5.

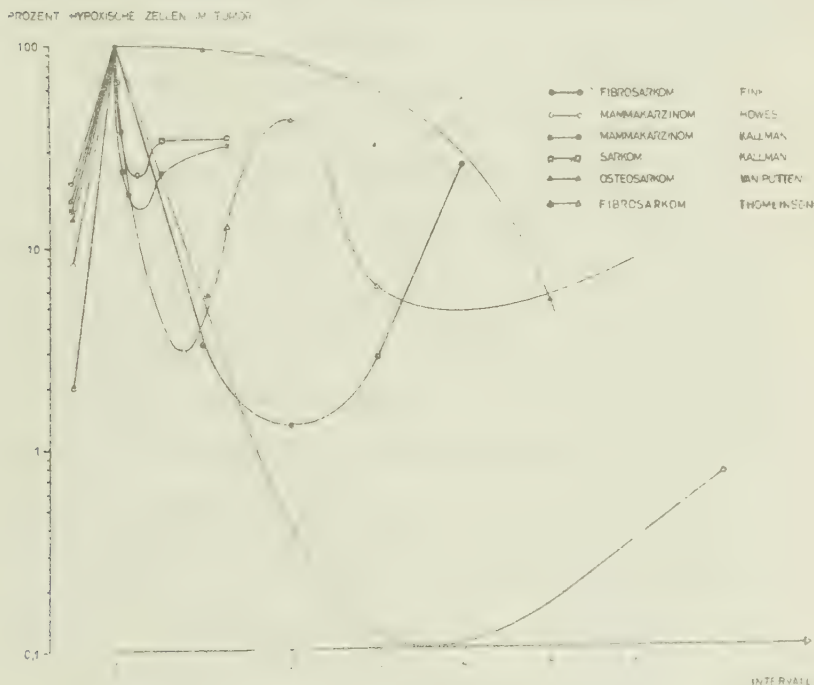


Abb. 4.3.

Zusammenstellung der Ergebnisse veröffentlichter Untersuchungen zur Reoxygenierung. Es ist die hypoxische Fraktion verschiedener Tumorsysteme zum jeweiligen Zeitpunkt vor oder nach einer Initialdosis zu ersehen.

Die Abbildung 4.3. stellt die Ergebnisse von sechs Untersuchungen zusammen.

Für das Fibrosarkom SSK 31, das vor der Bestrahlung 2 % hypoxische Zellen enthält, wurden für die verschiedenen Intervalle nach der Initialbestrahlung mit 1300 rd folgende Werte ermittelt:

Nach einem Tag betrug die hypoxische Fraktion etwa 3 %, nach zwei Tagen 1 %, nach drei Tagen 3 %, nach vier Tagen 24 % der Gesamtzellpopulation.

Nach der Initialbestrahlung ist die Zahl der euoxischen Zellen vernachlässigbar klein. Der Initialdosis von 1300 rd entspricht eine Reduktion um $8-10 D_{10}$, folglich hat man mit einer Überlebensfraktion von ca. 10^{-4} zu rechnen. Die strahlenresistentere hypoxischen Zellen werden auf ca. 1/10 ihrer Ausgangszellzahl reduziert.

Machen wir uns diese Verhältnisse an einem einfachen Beispiel klar. Nehmen wir an, der mit der Initialdosis behandelte Tumor enthalte 10^9 Zellen; 2 % seien hypoxisch. In Absolutwerten enthält er also 98×10^7 euoxische und 2×10^7 hypoxische Zellen. Nach der Bestrahlung mit 1300 rd stehen den überlebenden 98000 euoxischen Zellen 2×10^6 hypoxische gegenüber. Die hypoxische Fraktion beträgt jetzt 80-95 %.

Im Anschluß an die massive Reduktion der euoxischen Zellen tritt ein sekundäres Ansteigen der hypoxischen Zellen ein. Bereits nach einem Tag erreicht die hypoxische Fraktion den Ausgangswert. Das sekundäre Ansteigen

maximum ist mit etwa 1 % hypoxische Zellen um 48 Stunden herum gelegen. Die hypoxische Fraktion beginnt wieder größer zu werden. Drei Tage nach der Initialbestrahlung ist sie noch auf dem Niveau des unbestrahlten Tumors, aber bereits einen Tag später, vier Tage nach der Initialdosis nimmt sie einen Wert von ca. 24 % an.

Die Rate der Reoxygenierung in den ersten beiden Tagen ist mit der von Howes an spontan entstandenen Mammarkarzinomen der C₃H-Maus festgestellten gleichzusetzen (Howes, 1969).

Im folgenden war es möglich, biologische Befunde herangezogen, um das nach der Initialbestrahlung mit 1300 rd beobachtete Tumorwachstum zu erklären.

Am ersten Tag nach der Initialbestrahlung tritt eine Mitoseverzögerung auf, deren Dauer nach 1300 rd auf ca. einen Tag zu veranschlagen ist. Die Zellproduktion ist somit eingestellt, der Zellverlust jedoch hält unvermindert an.

(Die Beobachtung des Regressionsverhaltens von Tumoren nach unterschiedlichen Dosen belegt, daß die Mitoseverzögerung hier der ausschlaggebende Faktor ist, und nicht die definitive Inaktivierung, die Aufhebung der Proliferationsfähigkeit klonogener Zellen.)

Als Grund dafür, daß diese Stagnation des Tumorstadiums in unseren Messungen nicht deutlich zum Ausdruck kommt, kann die sofort nach der Bestra-

lung einsetzende Odembildung im bestrahlten Hautareal angeführt werden.

Am zweiten Tag nehmen die Zellen die Teilungstätigkeit wieder auf. Bei der applizierten Dosis von 1300 rd können auch die letztlich inaktivierten Zellen in der Regel noch mindestens eine Teilung durchführen, erst nach der ersten oder zweiten Teilung nach dem Mitosestopp geht ein Teil der Zellen - häufig nach einer defekten Mitose - zugrunde.

Am dritten bis vierten Tag ist mit einer weitgehenden Restitution der Zellproliferation zu rechnen, die regelmäßig zweifach mit einer Zunahme der Zellverlustrate zusammenfällt (Hofer, 1970).

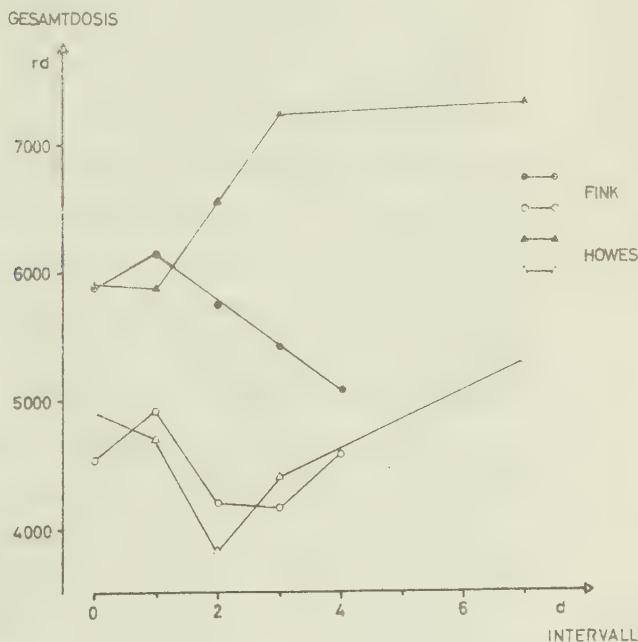
Bei mit unserer Meßmethode verfolgbare Wachstumsverlauf ist die Resultante einer multifaktoriellen Kinetik, demgegenüber scheint der Reagenzienverlaufsverlauf im wesentlichen mit dem Faktor Zellproliferation, also der Reproduktion korreliert. Diese sollte am Verlauf der TCD_{50} ϕ_2 -Werte zu verfolgen sein.

Die Abbildung 4.4. soll das Verhalten der TCD_{50} -Werte unter den verschiedenen Bedingungen des Bestrahlungsplanes anschaulich machen. Beide Koordinatenachsen sind linear skaliert: auf der Abszisse die Dauer des Intervalls zwischen der Initial- und Testdosis in Tagen; auf der Ordinate die Dosis in der Dimension rd. Die Kreise und Punkte, die ungefüllten und gefüllten Dreiecke symbolisieren die unter aeroben bzw. anoxischen Bestrahlungsbedingungen gewonnenen TCD_{50} -Werte.

Zum Zeitpunkt Null sind die TCD_{50} -Werte des Einzeldosis-Experiments aufgetragen, alle weiteren sind nach der Initialbestrahlung ermittelt. Sie geben die applizierte Gesamtdosis an; die zu addierenden 1300 rd der Initialbestrahlung sind berücksichtigt. Alle Werte sind der Tabelle 3.2. zu entnehmen. Zum Vergleich wurden die von Howes für die entsprechenden Versuchsbedingungen angegebenen Daten in modifizierter Form hinzugefügt (Howes, 1969).

Abb. 4.4.

Die TCD_{50} -Werte bei Einschlag- und Split dose-Bestrahlung mit verschiedenen Intervallen. Es ist die Gesamtdosis angegeben. Vergleich der vorliegenden Arbeit mit Daten von Howes (1969).



Unmittelbar nach der Initialdosis, die, wie oben ausgeführt, praktisch alle euoxischen Zellen inaktiviert, ist die $TCD_{50} O_2$ der $TCD_{50} \emptyset_2$ gleichzusetzen. Die Differenz der TCD_{50} -Werte nach einem Tag kommt durch die

Reoxygenierung zustande.

Die Kurve der $TCD_{50\ O_2}$ -Werte gibt das Verhalten der absoluten Zahl hypoxischer Zellen im Tumor wieder. Aus den zitierten Zellüberlebenskurven ist zu entnehmen, daß die euoxischen Zellen im Bereich der interessierenden Dosen einen vernachlässigbaren Einfluß auf die Tumorkurabilität haben.

Für die anoxische Bestrahlung werden die euoxischen Zellen mittels Abklemmen in hypoxische übergeführt. Somit reflektiert die Kurve der $TCD_{50\ \emptyset_2}$ -Werte die quantitativen Veränderungen in der Gesamtzellpopulation. Es ist erwartungstreu, daß die $TCD_{50\ \emptyset_2}$ einen Tag nach der Initialbestrahlung etwas über der Einzelbestrahlung liegt, da die registrierte Dosis einer Gesamtdosis fraktionierter Bestrahlung entspricht: Die subletal geschädigten Zellen, die nicht inaktiviert worden sind, können sich im Verlauf von einigen Stunden erholen und für Strahlenschäden die Kompensationsfähigkeit von unbestrahlten Zellen wiedererlangen. Ein Teil der Testdosis wird so kompensiert, was in der Erhöhung der mittleren Heilungsdosis zum Ausdruck kommt. Der weitere Verlauf läßt eine kontinuierliche Reduktion der Gesamtzellzahl annehmen.

Dies steht in Gegensatz zu den oben getroffenen Aussagen zum Tumorstadiumsverlauf nach der Initialdosis und seiner strahlenzytologischen Validierung. Danach wäre aufgrund der in Gang kommenden Repopulation

nach einem annähernd stationären Verhalten ein Ansteigen der Kurve zu erwarten.

Die überzeugende innere Konsistenz des Kurvenverlaufs erlaubt es nicht, hierfür nur akzidentelle Zufälligkeiten des methodischen Vorgehens ins Feld zu führen, sie macht eine stringente inhaltliche Interpretation notwendig.

Vom ersten bis zum vierten Tag nach der Initialbestrahlung nimmt die $TCD_{50} \varnothing_2$ von 4850 rd in etwa gleich großen Schritten auf 3750 rd ab. Nach dem oben zur Interpretation der $TCD_{50} \varnothing_2$ -Werte (sagten) müßte man am vierten Tag eine Verringerung der Zahl klonogener Zellen auf $\frac{1}{2}$ des Ausgangswerts vom ersten Tag postulieren. Dies erscheint paradox. Welche anderen Ursachen können angeführt werden?

Howes (1969) hat den Reoxygenierungsverlauf auch nach kürzeren Zeitintervallen getestet. Eine Stunde nach einer Initialdosis von 1500 rd betrug die $TCD_{50} \varnothing_2$ 3750 rd, nach sechs Stunden 4620, nach 24 Stunden 4370 und nach 48 Stunden 5060 rd. (Dieser Verlauf wurde durch die modifizierte Wiedergabe in der Abb. 4.4. unterschlagen.) Der Autor sieht in den TCD_{50} -Werten eine Zunahme der Strahlenempfindlichkeit der überlebenden Zellpopulation zum Ausdruck kommen.

Eine der unsrigen vergleichbare Beobachtung zeigt sich in Daten von Hermens: Die Fraktion klonogener Zellen in den zentralen Anteilen eines R-1 Rhabdo-

myosarkoms der Ratte hatte sich am vierten Tag nach einer Bestrahlung mit 2000 rd gleichwertiger Strahlenqualität auf einen Wert zwischen 40-70 % der Zahl unmittelbar nach der Bestrahlung verringert (Hermens, 1973). Hierbei handelt es sich um eine in-vitro-Testung.

Die prinzipielle Problematik der Interpretation der vorliegenden Daten wird deutlich:

Repräsentiert der Verlauf der $TCD_{50} O_2$ -Werte ausschließlich das numerische Verhalten der Gesamtzellzahl oder wird die mittlere Tumorheilungsdosis noch von anderen Faktoren bestimmt? Werden die überlebenden Zellen im Zeitraum zwischen dem ersten und vierten Tag nach der Initialdosis strahlenempfindlicher?

Beträfe dies nur die von den Reoxygenierungsvorgängen ausgeschlossenen hypoxischen Zellen, würden die $TCD_{50} O_2$ und die $TCD_{50} O_2$ gleichermaßen verändert werden, ihre "Distanz" unverändert bleiben.

Vielmehr jedoch müssen wir annehmen, daß gerade die eukaryotische Zellfraktion - zumeist vormals hypoxische Zellen, deren verminderte Erholungsfähigkeit schon erwähnt wurde - in fraglichen Zeitraum eine erhöhte Strahlenempfindlichkeit aufweist, was ausschließlich die $TCD_{50} O_2$ tangierte. Sie fielen kleiner aus als entsprechend der Gesamtzellzahl zu erwarten wäre. Das Ausmaß der Reoxygenierung wurde unterschätzt

werden.

welche Ursachen liegen hinter Erhöhung der Strahlenempfindlichkeit zugrunde?

Partielle Synchronisierung der Zellzyklen und die wiedereinsetzende Proliferationsaktivität können dafür verantwortlich sein. Auch ist denkbar, daß die Toleranz der "reoxygenierten" Zellen gegen die durch Abklemmung erzeugte Reduktion der O_2 -Spannung oder allgemein der nutritiven Versorgung verringert ist relativ zu den originär eukaischen Zellen; möglicherweise gerade in Wechselwirkung mit den Faktoren Strahlenschädigung und forcierte Zellproliferation. Jedenfalls, kann es als wahrscheinlich gelten, daß es sich um ein komplexes System multipler Faktoren handelt, die für das Verhalten der $TCD_{50} \text{ } \phi_2$ -Werte bei einer Split dose-Bestrahlung verantwortlich sind.

Wir wollen anhand einer rechnerischen Spekulation versuchen, ein grobes Maß für die "Unterschätzung" des in Abb. 4.3. konstatierten Reoxygenierungsverlaufs zu gewinnen.

Wir unterstellen, die genannten interferierenden Faktoren hätten dazu geführt, daß die ermittelten $TCD_{50} \text{ } \phi_2$ -Werte kleiner seien als zu erwarten wäre, wenn sie die reale Gesamtzellzahl der Tumoren repräsentierten.

Gehen wir davon aus, daß die Gesamtzellzahl sich in den ersten vier Tagen nach der Initialdosis nicht wesentlich verändert, was mit der beobachteten Tumorwachstumskurve nach 1300 rd vereinbar ist:

Für die Berechnung der hypoxischen Fraktion sowohl

für den zweiten wie den dritten Tag nach der Initialbestrahlung legen wir den Wert von 4850 rd vom 1-Tage-Intervall zugrunde. Für beide Intervalle kann sie somit zu 0,4 % der Gesamtzellpopulation bestimmt werden.

Zweifellos werden mögliche Abweichungen deutlich, die eine große Ähnlichkeit unseres hypothetischen Reoxygenierungsverlaufs mit dem von Howes aufzeigen (Howes, 1969). Dennoch bleibt eine weitgehende qualitative Gültigkeit des in Abb. 4.3. dargestellten Reoxygenierungsverlaufs unbestritten.

4.2. Die Mechanismen der Reoxygenierung

Um die Vorstellungen von den Mechanismen zu explizieren, die dem quantitativ meßbaren Phänomen der Reoxygenierung zugrunde liegen können, greifen wir auf die histologischen Beobachtungen an Tumorgeweben zurück, die die Existenz hypoxischer Zellen postulieren lassen (Kallman, 1972).

Das Tumorpharenchym wird von mehr oder weniger dicht liegenden Kapillaren durchzogen. Der von ihnen transportierte Sauerstoff diffundiert in das Gewebe, wobei die Konzentration in radialer Richtung entsprechend dem Verbrauch abnimmt. Wenn der Abstand zwischen den Kapillaren eine bestimmte Grösse überschreitet, geraten die kapillarfernen Zellen in eine Sauerstoffmangelsituation, schließlich werden sie nekrotisch. Für alle formulierten Me -

chanismen der Reoxygenierung ist die Reichweite und das Angebot von Sauerstoff von fundamentaler Bedeutung.

Sinkt der O_2 -Verbrauch - wir haben festgestellt, daß die Subpopulation der euoxischen Zellen durch die Initialbestrahlung fast komplett inaktiviert wird -, dann wird die Diffusionsstrecke ausreichender Sauerstoffmengen größer werden, die Schwelle suffizienter O_2 -Versorgung wird radial vorrücken und vordem hypoxische Zellen in euoxische überführen.

Derselbe Effekt könnte durch eine vergrößerte Durchflußrate der Kapillaren hervorgerufen werden, die auf einer erhöhten Füllungskapazität basiert.

Hypoxische Zellen könnten sich aufgrund chemotaktischer Reize in Richtung höherer Sauerstoffspannung bewegen. Sie sind nunmehr den strahlengeschädigten Zellen in ihrer Migrationspotenz überlegen, die passiv in kapillarfernere Bereiche abgedrängt würden.

Die zirkulär um die Stränge aus Tumorzellen gelegenen Kapillaren können der Zone hypoxischer Zellen näherrücken, wenn die letal strahlengeschädigten Zellen nach ihrer Lysis abgeräumt werden. Durch die Schrumpfung des Tumorzellstrangs würde die Grenze genügenden O_2 -Angebots zentripetal in den Bereich hypoxischer Zellen vorgeschoben.

Ohne gesicherte Kenntnisse muß angenommen werden, daß die Reoxygenierung das Resultat mehrerer zusammenwirkender Mechanismen ist. Sie könnten ent-

sprechend der zeitlichen Plazierung der Reoxygenierung im Oxygenierungsverlauf in verschiedenen Kombinationen und Gewichtungen relevant werden.

Die Messungen des Tumorwachstums nach 13°C rd (vergl. Abb. 3.1.) belegen allerdings, daß der Schrumpfung bei der initialen Reoxygenierung des Fibrosarkoms SSK 31 keine größere Bedeutung zukommen kann.

4.6. Die Bedeutung des quantitativen und zeitlichen Aspekts der Reoxygenierung für die Strahlentherapie

Die prinzipielle strahlentherapeutische Valenz der hypoxischen Tumorzellen und einige ihrer Charakteristika bei fraktionierter Strahlenbehandlung wurden in den Kapiteln 4.1. und 4.4. angesprochen.

Die Befunde der vorliegenden Untersuchung lenken die Aufmerksamkeit auf die Bedeutung des Zeitfaktors im Reoxygenierungsgeschehen. Unter Verzicht auf jede detailliertere zeitliche Angabe kann festgestellt werden, daß ein Reoxygenierungsmaximum innerhalb eines bestimmten Zeitintervalls nach einer Bestrahlung existiert. Hierin liegen Chance und Risiko. Risiko, insofern die ermittelten Daten ausweisen, daß ein Überschreiten des optimalen Intervalls um nur 24 Stunden die strahlentherapeutischen Erfolgsaussichten ganz erheblich dezimieren kann.

Deshalb stimmt das für das Fibrosarkom SSK 31 am zweiten Tag festgestellte Reoxygenierungsmaximum unter Berücksichtigung der Höhe der Plazierung mit einer Rei-

he von Untersuchungen überein, bei denen sich ein Fraktionierungsintervall von ca. zwei Tagen als optimal erwies (Hug, 1977).

Obwohl die Reoxygenierung zu den wohl am besten untersuchten Mechanismen gehört, die den sog. Zeitfaktor bestimmen, lassen sich den vielen offenen Fragen mühelos weitere hinzufügen.

Ergeben sich im Laufe fraktionierter Strahlenbehandlung Veränderungen des Reoxygenierungsprozesses? Wie lassen sich Ausmaß (z.B. Hyperreoxygenierung) und zeitlicher Verlauf der Reoxygenierung beeinflussen? Welche Mechanismen liegen der Reoxygenierung zugrunde? Weiter ist zu fragen, ob bei der "Messung" der Reoxygenierung nicht andere Faktoren, die ebenso zu einer temporären Zunahme der Strahlensensibilität des Tumorgewebes führen können, mitgemessen wurden? So wurde an einem anderen Tumor beobachtet, daß die Rekrutierung, d.h. der Eintritt bisher ruhender Zellen in den Zellzyklus, bedingt durch die Inaktivierung und den Abbau bislang proliferierender Zellen, zwischen dem 2. und 3. Tag nach Bestrahlung ein Maximum erreicht (Szczepanski und Trott, 1975).

Diese zeitliche Koinzidenz verschiedener die Tumorstahlensensibilität beeinflussender Faktoren unterstreicht, daß der Mechanismus der Reoxygenierung "nicht unbedingt der einzige und vielleicht nicht einmal der wichtigste zu sein braucht, der für die wechselnde Sensibilität in der Nachbestrahlungspha-

se verantwortlich ist" (Hug, 1977).

Es kann nur einmal mehr betont werden, daß das "Ohne Gewähr" der strahlenbiologischen Aussagen für die strahlentherapeutischen Belange solange unumgänglich sein wird, als den tierexperimentellen Methoden nicht solche an die Seite gestellt werden, die die Untersuchung menschlicher Tumoren ermöglichen.

5. Zusammenfassung

Das solid wachsende Fibrosarcom 356 31 wurde auf 100 -
Mäuse transplantiert und nach Erreichen einer definierten
Versuchsgröße mit 1300 rd in situ bestrahlt. Nach
1,2,3 oder 4 Tagen erfolgte die Testbestrahlung mit Do-
sen von 2100 bis 5600 rd in situ unter normalen ambien-
ten oder anoxischen Bedingungen. Nach 8-monatiger Beob-
achtung und fortlaufender Messung der Tumorgroße wurde
für jedes Tier der Erfolg der Behandlung als Heilung
oder Rezidiv festgestellt.

Die ermittelten Heilungsraten liefern für jedes Funk-
tionierungsintervall Dosiseffekturven für die normale
umgebung und anoxische Bestrahlung. Die daraus bestimm-
ten TD_{50} -Werte ermöglichen die Berechnung der hypoxi-
schen Tumorzellfraktion für die verschiedenen Zeitpunk-
te nach der Initialbestrahlung. Der Sauerstoffeffizienzenver-
lauf wurde mit den entsprechenden Daten vorliegender Un-
tersuchungen verglichen.

Der Anteil der hypoxischen Zellen an der Gesamtzell-
zahl betrug im unbehandelten Tumor 2 % , unmittelbar

nach der Initialbestrahlung mit 1300 rd zwischen 80-95 %. Durch Reoxygenierung sank dieser Anteil bereits einen Tag nach der Initialdosis auf 3 %, zwei Tage danach auf 1 % - die Population überlebender Tumorzellen enthielt somit eine kleinere hypoxische Fraktion als der unbehandelte Tumor -; am dritten Tag erhöhte er sich auf 3 % und stieg dann rapide auf 24 % am vierten Tag nach der Initialbestrahlung an. Eine Korrelation mit dem Volumenverhalten des Tumors in diesem Zeitraum bestand nicht.

6. Literaturverzeichnis

- Barendsen, G.W., Broerse, J.J.: Experimental radio - therapy of a rat rhabdomyosarcoma with 15 MeV neutrons and 300 KV-rays. II.: Effect of single exposures. *Europ. J. Cancer* 5, 373-391, (1969).
- Hermens, A.F.: Variations in the cell kinetics and the growth rate in an experimental tumour during natural growth and after irradiation. Dissertation Univ. Amsterdam. Uitgeverij Waltman, Delft, 1973.
- Hewitt, H.B.: Studies of quantitative transplantation of mouse sarcoma. *Brit. J. Cancer* 7, 367-383, (1953).
- Hofer, M.G.: Radiation effects on death and migration of tumor cells in mice, *Radiat. Res.* 43, 633-678, (1970).
- Howes, A.E.: An estimation of changes in the proportions and absolute numbers of hypoxic cells after irradiation of transplanted C3H mouse mammary tumours, *Brit. J. Radiol.* 42, 441-447, (1969).
- Howes, A.E., Page, A., Fowler, J.F.: The effect of single and fractionated doses of X rays on the effective proportion of hypoxic cells in C3H mouse mammary tumours, *Brit. J. Radiol.* 45, 250-256, (1972).
- Hug, C.: Einführung in das Problem des Zeitfaktors und seine therapeutische Bedeutung, *Strahlentherapie* 153, 362-370, (1977).
- Kallman, R.F.: The phenomenon of reoxygenation and its implications for fractionated radiotherapy, *Radiol.* 105, 135-142, (1972).
- Kummermehr, J., Trott, K.-R.: Sensitization of a transplantable murine fibrosarcoma by partial synchronization with hydroxyurea, in: *Radiobiol. Res. needed for the improvement of radiotherapy*, IAEA, Wien, 1977.
- McNally, R.J.: A comparison of the effects of radiation on tumour growth delay and cell survival. The effect of oxygen, *Brit. J. Radiol.* 46, 450-455, (1973).
- Powers, W.E., Tolmach, L.J.: Demonstration of an anoxic component in a mouse tumor-cell population by in vivo assay of survival following irradiation, *Radiol.* 83, 328-335, (1964).

- v.Putten, I.M.: Tumour reoxygenation during fractionated radiotherapy; studies with a transplantable mouse osteosarcoma, *Europ.J.Cancer* 4, 173-182, (1968).
- v.Putten, I.M., Kallman, R.F.: Oxygenation status of a transplantable tumor during fractionated radiation therapy, *J.Nat.Canc.Inst.* 40, 441-451, (1968).
- Rockwell, S., Kallman, R.F.: Cellular radiosensitivity and tumor radiation response in the EMT6 tumor cell system, *Radiat.Res.* 53, 281-294, (1973).
- Steel, G.G., Adams, K., Barrett, I.C.: Analysis of the cell population kinetics of transplanted tumours of widely-differing growth rate, *Brit.J.Cancer* 20, 784-800, (1966).
- Suit, H.D., Shalek, R.I., Wette, R.: Radiation response of C3H mouse mammary carcinoma evaluated in terms of cellular radiation sensitivity, *Cell. Radiat.Biol.*, 514-530, (1965).
- v.Szczepanski, L., Trott, K.-R.: Post-irradiation proliferation kinetics of a serially transplanted murine adenoma, *Brit.J.Radiol.* 48, 200-208, (1975).
- Tannock, I.F.: Effects of pO_2 on cell proliferation kinetics, in: Conference on time and dose relationships in radiation biology as applied to radiotherapy 2, 242-247, (1969).
- Tannock, I.F.: Oxygen diffusion and the distribution of cellular radiosensitivity in tumours. *Brit.J. Radiol.* 45, 515-524, (1972).
- Thomlinson, R.H., Gray, L.H.: The histological structure of some human lung cancers and the possible implications for radiotherapy, *Brit.J.Canc.* 9, 539-549, (1955).
- Trott, K.-R.: Strahlenwirkungen auf die Vermehrung von Säugetierzellen, in: Hug, O., Zuppinger, A. (Hrsg.): *Handbuch der medizinischen Radiologie*, Bd.III *Strahlenbiologie*, 43-125, 1972.
- Trott, K.-R., v.Szczepanski, L., Kummermehr, J., Hug, O.: Tumour control probability and tumour regression rate after fractionated radiotherapy of two mouse tumours, in: *Radiobiol.Res. needed for the improvement of radiotherapy*, IAEA, Wien, 1977.

Lebenslauf

22.5.1949	in Augsburg geboren
1955 - 59	Volksschule in Augsburg
1959 - 68	Peutinger-Gymnasium in Augsburg
WiSe 68/69 -	Studium an der Ludwig-Maximilians
SoSe 77	Universität München: Germanistik, Soziologie, Psychologie, Medizin (WiSe 71/72 - SoSe 77 nach AO)
3.11.1977	Approbation als Arzt
Nov.77-Jan.78	Truppenarzt in München
seit Febr.78	zivildienstleistender Arzt in der Psychiatrischen Klinik der Univer- sität München

